

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-106391

(43)Date of publication of application : 20.04.1999

(51)Int.Cl.

C07F 9/10
A61K 9/127
C07K 17/02
G01N 33/543
G01N 33/547

(21)Application number : 09-284289

(71)Applicant : JSR CORP
KOBAYASHI TAKESHI

(22)Date of filing : 02.10.1997

(72)Inventor : KOBAYASHI TAKESHI
SHINKAI MASASHIGE
HONDA HIROYUKI
KITADE TAMOTSU

(54) FINE PARTICLE HAVING PHOSPHOLIPID MEMBRANE AND IMMOBILIZATION OF BIOPOLYMER TO THE SAME PARTICLE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the above fine particles capable of immobilizing a biopolymer without a reduction of physiological activities and useful for a diagnostic carrier, an agent for a thermal therapy of a cancer, etc., by forming a membrane of a lipid containing maleimide group with a lipid and then mixing with fine magnetic particles in a buffer solution.

SOLUTION: The fine particles having a lipid membrane containing maleimide group at the surface thereof and capable of immobilizing a biopolymer efficiently and without reducing physiological properties thereof, are obtained by dissolving a lipid containing maleimide group such as N-(ϵ -maleimidecaproyloxy)- dipalmitoylphosphatidylethanolamine, and a lipid such as phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine with chloroform in a round bottom flask to form a solution, then removing the solvent under a reduced pressure to form a lipid membrane containing maleimide group in the round bottom flask, then, after drying the obtained membrane, adding a slurry containing magnetic fine particles such as lauric acid magnetite into the round bottom flask, also adding a phosphate-buffered saline and applying a supersonic agitation.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-106391

(43) 公開日 平成11年(1999) 4月20日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	F I
C 0 7 F 9/10		C 0 7 F 9/10 B
A 6 1 K 9/127		A 6 1 K 9/127 A
C 0 7 K 17/02		C 0 7 K 17/02
G 0 1 N 33/543	5 2 5	G 0 1 N 33/543 5 2 5 G
33/547		33/547
審査請求 未請求 請求項の数 4 F D (全 6 頁)		

(21) 出願番号	特願平9-284289	(71) 出願人	000004178 ジェイエスアール株式会社 東京都中央区築地 2 丁目11番24号
(22) 出願日	平成 9 年(1997)10月 2 日	(71) 出願人	000186441 小林 猛 愛知県名古屋市中千種区下方町 4-29
		(72) 発明者	小林 猛 愛知県名古屋市中千種区下方町 4-29
		(72) 発明者	新海 政重 愛知県東海市高橋須賀町前畑 6
		(74) 代理人	弁理士 白井 重隆
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 リン脂質膜を有する微粒子、およびこの微粒子への生体高分子の固定化方法

(57) 【要約】

【課題】 効率的、かつ生理活性をなるべく低下させずに、生体高分子を固定化することができる微粒子、この微粒子に効率的、かつ生理活性をなるべく低下させずに生体高分子を固定化する方法、およびこの方法によって生体高分子が固定化された微粒子を提供すること。

【解決手段】 マレイミド基を含有するリン脂質膜が表面に存在する微粒子、この微粒子と S H 基を有する生体高分子とを接触させて、マレイミド基と S H 基とを反応させこの微粒子へ生体高分子を固定化する方法、およびこの方法によって生体高分子が固定化された微粒子。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 マレイミド基を含有するリン脂質膜が表面に存在することを特徴とする微粒子。

【請求項 2】 微粒子が磁性微粒子である請求項 1 に記載の微粒子。

【請求項 3】 請求項 1 または 2 に記載の微粒子と S H 基を有する生体高分子とを接触させることを特徴とする微粒子への生体高分子への固定化方法。

【請求項 4】 請求項 3 に記載の方法により得られる、生体高分子が固定化された微粒子。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、マレイミド基を含有するリン脂質が表面に存在する微粒子、この微粒子に生体高分子を固定化する方法、および生体高分子を固定化した微粒子に関する。

【0002】

【従来の技術】 従来より、微粒子に生体高分子を固定化する試みが行われている。生体高分子が固定化された微粒子は、例えば診断薬用担体として用いることができる。生体高分子を微粒子に固定化するに際し、固定化が効率的であるとともに、生体高分子の生理活性の低下が少なければ少ないほど望ましい。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、効率的に、且つ生理活性をなるべく低下させずに生体高分子を固定化することができる微粒子を提供することにある。本発明の他の目的は、この粒子に効率的に、かつ生理活性をなるべく低下させずに生体高分子を固定化する方法を提供することにある。本発明のさらに他の目的は、生体高分子が効率的に固定化されており、かつ固定化された生体高分子の生理活性の低下の少ない微粒子を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明は、マレイミド基を含有するリン脂質膜が表面に存在することを特徴とする微粒子を提供するものである。ここで、上記微粒子は、磁性微粒子であることが好ましい。また、本発明は、上記微粒子と S H 基を有する生体高分子とを接触させることを特徴とする微粒子への生体高分子の固定化方法を提供するものである。さらに、本発明は、上記微粒子への生体高分子の固定化方法により得られる、生体高分子が固定化された微粒子を提供するものである。

【0005】

【発明の実施の形態】 本発明のマレイミド基を含有するリン脂質膜が表面に存在する微粒子（以下、単に「微粒子（1）」ともいう）は、マレイミド基と生体高分子の S H 基とが、温和な条件下、例えば室温下で容易に反応するので、効率よくこの微粒子に生体高分子が固定化するとともに、生体高分子の生理活性は実質上維持され

る。生体高分子が固定化された上記微粒子（以下、単に「微粒子（2）」ともいう）は、例えば抗体-抗原反応を利用した診断薬用担体として用いることができる。また、微粒子が磁性微粒子であれば、癌細胞を殺すための温熱療法（ハイパーサーミア）に用いることができる。

【0006】 微粒子（1）および微粒子（2）の核となる微粒子は、磁性あるいは非磁性いずれであってもよく、また無機質あるいは有機質であってもよい。磁性微粒子としては、磁性金属微粒子、磁性酸化物微粒子、六方晶系フェライト微粒子などを挙げることができる。これらの磁性微粒子は、必要に応じて、稀土類元素や遷移金属元素を含有していてもよい。磁性金属微粒子としては、金属分が 70 重量%以上であり、この金属分の 80 重量%以上が Fe である鉄を主体とした磁性金属微粒子が挙げられ、例えば Fe-CO、Fe-Ni、Fe-Al、Fe-Ni-Al、Fe-Co-Ni、Fe-Ni-Al-Zn、Fe-Al-Si などの金属微粒子を挙げることができる。また、磁性酸化物微粒子として、FeO_x（ $4/3 \leq x \leq 3/2$ ）で表わされる酸化鉄系の強磁性微粒子；FeO_xに Cr、Mn、Co、Ni などの二価の金属が添加された酸化鉄微粒子、FeO_xに Co 被着させた Co 被着 FeO_x微粒子；二酸化クロムまたは二酸化クロムに、Na、K、Fe、Mn などの金属、あるいはこれら金属の酸化物が添加された酸化物微粒子などを挙げることができる。また、六方晶系フェライト微粒子として、微小平板状のバリウムフェライト、ストロンチウムフェライト、およびこれらの Fe 原子の一部が Ti、Co、Ni、Zn、V などの原子で置換されたものを挙げることができる。

【0007】 非磁性粒子としては、金、パラジウム、カーボンブラック、グラファイト、 α 、 γ 、 δ 、 θ などの結晶形態を有するアルミナ、シリカ、コロイダルシリカ、酸化チタン、硫酸バリウム、硫化亜鉛、炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム、酸化亜鉛、酸化カルシウム、酸化マグネシウム、二硫化タングステン、二硫化モリブデン、窒化ホウ素、二酸化スズ、二酸化ケイ素、非磁性の酸化クロム、炭化ケイ素、酸化セリウム、コランダム、人造ダイヤモンド、非磁性の酸化鉄、ザクロ石、ガーネット、ケイ石、窒化ケイ素、炭化モリブデン、炭化ホウ素、炭化タングステン、炭化チタン、ケイソウ土、ドロマイト、樹脂性の粒子（例えば、架橋シリコーン樹脂、架橋ポリスチレン、架橋アクリル樹脂、メラミンホルムアルデヒド樹脂、芳香族ポリアミド樹脂、ポリイミド樹脂、ポリアミドイミド樹脂、架橋ポリエステル、コア・シェル型有機ポリマー）などを挙げることができる。これらの磁性あるいは非磁性の微粒子は、1 種単独または 2 種以上組み合わせ使用することができる。

【0008】 上記微粒子の形状は、球状、板状、針状、紡錘状、無定形のいずれでもよく、またその平均粒径は、球状、板状、無定形のものの場合は、0.01~2

0 μ mであることが好ましい。また、針状あるいは紡錘状のもの場合は、長軸長が0.015～60 μ mで、軸比が3～20であるものが好ましい。

【0009】上記微粒子のリン脂質との親和性を向上させるために、微粒子に表面処理を施してもよい。表面処理は、シランカップリング処理、チタンカップリング処理、アルミニウムカップリング処理、プラズマ処理、硝酸、塩酸、硫酸などによる酸処理、アルカリ処理などの処理により行うことができる。

【0010】微粒子(1)は、上述した微粒子の表面にマレイミド基を含有するリン脂質膜が存在する。リン脂質膜中のマレイミド基の含有量は、通常、リン脂質膜1gあたり、0.01～0.4ミリモル、好ましくは0.1～0.3ミリモルである。また、表面に存在する上記リン脂質膜の量は、微粒子1gに対して、通常、0.1～1g、好ましくは0.5～0.8gである。上記マレイミド基を含有するリン脂質膜の好ましい態様では、このリン脂質膜がマレイミド基を含有する脂質とマレイミド基を含有しないリン脂質との混合物からなる。この場合、この混合物において、マレイミド基を含有する脂質の含有量は、1～30重量%、特に10～20重量%であることが好ましい。また、リン脂質の分子量は、通常、600～800であり、リン脂質1分子あたり、マレイミド基が、通常、1個含有されている。なお、微粒子(1)は、核となる微粒子の全表面がマレイミド基を含有するリン脂質膜で覆われている必要は必ずしもなく、上記で特定されている条件を満たしていれば、好ましい結果を与えることができる。

【0011】マレイミド基を含有する脂質は、好ましくは下記脂質に下記マレイミド基含有化合物を反応させることにより得ることができるが、これに制限されない。

<脂質>

(1) リン脂質

フォスファチジルエタノールアミン、フォスファチジルグリセロールなど。

(2) その他の脂質

ステアリンアミン、オレイルアミンなどの脂肪族アミン、好ましくは直鎖脂肪族アミン。これら(1)および(2)の脂質は、1種単独でまたは2種以上を組み合わせ使用することができる。

<マレイミド基含有化合物> N-(4-マレイミドブチロキシ)サクシンイミド、N-(6-マレイミドカプロイロキシ)サクシンイミド、N-(8-マレイミドカプロイロキシ)サクシンイミド、N-(11-マレイミドウンデカノイルオキシ)サクシンイミド、N-[4-(2-マレイミドエトキシ)サクシニル]オキシサクシンイミド、N-サクシニミジル-3-(2-ピリジリジチオ)プロピオネートなど。これらは、1種単独でまたは2種以上を組み合わせ使用することができる。

【0012】脂質とマレイミド基含有化合物との反応

は、アシル化反応であり、化学量論的に進行する。脂質に含有させる所望量のマレイミド基に相当する量のマレイミド基含有化合物を使用し、溶媒の存在下に、通常、室温～100℃、好ましくは50～70℃の温度で、通常、8～12時間、攪拌下に反応させることにより、マレイミド基を含有する脂質が生成する。その後、例えば担体としてシリカゲルを用いたクロマトグラフィーの手法により、精製されたマレイミド基を含有する脂質を取得することができる。ここで、使用できる反応溶媒として、クロロホルム、メタノール、トルエン、ベンゼン、シクロヘキサンなどを挙げることができ、クロロホルム、メタノールが好ましい。上記反応および一連の操作は、公知であり〔例えば、Martin et al., Biochemistry vol 20, 4229 (1981) 参照〕、後述する実施例をも参照すれば、当業者はマレイミド基を含有する脂質を容易に製造することができる。

【0013】以上の方法で取得されたマレイミド基を含有するリン脂質を用いて、該リン脂質膜が表面に存在する微粒子(1)は、下記ステップ(1)～(4)によって調製することができる。

ステップ(1)：マレイミド基を含有するリン脂質を、またはマレイミド基を含有する脂質とマレイミド基を含有しないリン脂質とを、溶媒に溶解して、濃度5～20g/L程度の溶液を調製する。ここで、使用できる溶媒として、クロロホルム、メタノール、トルエン、ベンゼン、シクロヘキサンなどを挙げることができ、クロロホルム、メタノールが好ましい。

ステップ(2)：上記溶液を、例えばナス型フラスコに注ぎ、減圧下に溶媒を除去して、マレイミド基を含有するリン脂質膜を形成し、さらにこの膜を、例えばデシケーター中で乾燥する。

ステップ(3)：上記ナス型フラスコ中に、核となる微粒子が蒸留水に約5～20g/Lの濃度で懸濁したスラリーを、脂質30mgに対して約70～80mg加え、さらにこのスラリーの濃度の約10～20倍の濃度のリン酸緩衝生理食塩水1容に対して約0.1～0.05容加える。引き続き、30～60秒の超音波攪拌を15～30秒の休止を挟んで、15～60分間繰り返す。

ステップ(4)：超音波攪拌後の液について、例えば遠心分離器で、500～3,500rpmの比較的弱い遠心を5～15分間行ない、得られた上清について5,000～8,000rpmの強い遠心を30～60分間行ない、マレイミド基を含有するリン脂質膜が表面に存在する微粒子(1)を沈殿物として得る。ここで、上記ステップ(1)～(3)は、同一の容器内で行なうことができる。

【0014】かくして得られたマレイミド基を含有する微粒子(1)をSH基を有する生体高分子と接触させることにより、マレイミド基とSH基が反応して微粒子

(1) に生体高分子が固定化されて、微粒子 (2) が生成する。上記生体高分子として、抗体分子などの蛋白、核酸、多糖類などを挙げることができる。これら生体高分子は、通常、そのままではSH基を有さないもので、何らかの処理が施される。蛋白の場合は、その中に含有される—SS—結合を還元することにより、SH基に変換することができる。また、核酸の場合、例えばヌクレオチドを構成する塩基が有するアミノ基を2-イミノチオランと反応させてチオール化することにより、SH基を導入することができる。また、多糖類の場合、例えばアミノ糖が有するアミノ基を2-イミノチオランと反応させてチオール化することにより、SH基を導入することができる。これらの処理方法は、それ自体公知であり、Traut and Kenney 1977 Protein Crosslinking, Plenum Pub. Co.、およびKing et al., 1978 Biochemistry vol 17, 1499に記載されている。

【0015】本発明にあっては、固定化する生体高分子は、元の生体高分子を部分分解して得られるフラグメント (断片) または大腸菌などで生産された組換え抗体分子フラグメントであってもよい。ここで、部分分解とは、生体高分子を完全に分解することなく、一部を分解して複数のフラグメントを得る処理をいう。従って、本発明では、例えば抗体分子を部分分解して、または大腸菌などにより組換え抗体分子フラグメントを生産して、生理活性を有する構造を含むフラグメントを得、必要に応じてSH基に変換する処理を行ったのち、生体高分子としての該フラグメントを微粒子 (1) に固定化することができる。

【0016】微粒子 (1) と生体高分子とを接触させマレイミド基とSH基を反応させることにより、生体高分子が固定化された微粒子 (2) を得るには、下記のステップ (イ) および (ロ) によって行なうことができる。ステップ (イ) : pH 5~7 のリン酸緩衝生理食塩水に、微粒子 (1) と、この微粒子 (1) 1 g あたり生体高分子 10~200 mg とを添加し、4℃~室温で 12~48 時間反応させる。ステップ (ロ) : ステップ (イ) で得られた反応液について、上記ステップ (4) で用いた遠心分離器により、5,000~8,000 rpm で 30~60 分間遠心分離を行い沈降させて、生体高分子が固定化された微粒子 (2) が得られる。未固定の生体高分子は、液中に残る。

【0017】かくして得られた生体高分子が固定化された微粒子 (2) は、抗体-抗原反応を利用した診断薬用担体として用いることができる。また、微粒子が磁性微粒子であれば、癌細胞を殺すための温熱療法 (ハイパーサーミア) などに用いることができる。

【0018】

【実施例】以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明の範囲は実施例に制限されるものではない。

実施例 1

(1) 磁性微粒子の調製

FeS_{0.4} (II) 7H₂O を 1.67 g サンプル瓶に取り、窒素置換した水 8 ml に溶解した。40℃に保温し、亜硝酸ナトリウム水溶液 (濃度: 0.07 g/ml) 1 ml を加え、さらに 28 重量% アンモニア水 5 ml を加え、窒素雰囲気下で攪拌した。磁性微粒子 (マグネタイト) を取り出し容器に入れ、40℃の温度で 30 分間放置した。この磁性微粒子の平均粒径は、10 nm であった。

(2) 磁性微粒子のラウリン酸による処理

上記で得られた磁性微粒子を 1.4 重量% のアンモニア水 25 ml で 2 回洗浄したのち、スイングロータ型遠心分離器 [クボタ (株) 製] を用いて、回転速度 3,000 rpm で 5 分間遠心を行い、沈降させた磁性微粒子をサンプル瓶に移した。引き続き、110℃で 5 分間加温したのち、ラウリン酸 0.12 g を加え、110℃に加熱し、攪拌と放置を 15 分間繰り返した。次に、10 ml の脱気水を加え、4℃で一晩放置したのち、純水に対して透析し、得られたラウリン酸マグネタイトを 4℃で保存した。

【0019】(3) マレイミド基を有する脂質の調製
N-(6-マレイミドカプロイロキシ) サクシニイミド (EMCS) 32.5 g とジパルミトイルフォスファチジルエタノールアミン (DPPE) 34.5 mg に、クロロホルム 2.5 ml とトリエチルアミン 5 mg を加え、60℃で 10 時間加温した。その後、溶媒を減圧除去し、再び少量のクロロホルムに再溶解した。このクロロホルム溶液を 10 ml のシリカゲルカラムにかけ、クロロホルム 100 ml、さらにはクロロホルム/メタノール (20/1:容積比) 混合溶媒 50 ml で洗浄した。次に、クロロホルム/メタノール (5/1) 混合溶媒で N-(ε-マレイミドカプロイロキシ) ジパルミトイルフォスファチジルエタノールアミン (EMC-DPPE: マレイミド基を有する脂質) を溶出した。得られたマレイミド基を有する脂質は、少量のクロロホルムに溶解し、-20℃で保存した。この EMC-DPPE は、マレイミド基を脂質 1 分子あたり 1 個有する。

【0020】(4) マレイミド基を有する脂質とリン脂質とからなるリン脂質膜が、表面に存在する磁性微粒子の調製

上記 EMC-DPPE 1.5 mg、フォスファチジルエタノールアミン 8.5 mg、およびフォスファチジルコリン 20 mg をクロロホルム 2 ml に溶解して溶液となし、その後溶媒を減圧除去し、ナス型フラスコに EMC-DPPE の膜を作成した。得られた膜をデシケーター内で一晩乾燥した。ナス型フラスコへ、ラウリン酸マグ

ネタイト（磁性微粒子）を10mg/mlの濃度で含有するスラリー状溶液4mlを加え、さらに10倍濃度のリン酸緩衝生理食塩水0.4mlを加えた。この混合溶液に対して、60秒の超音波攪拌を30秒の休止を挟んで1時間繰り返した。次に、超音波攪拌後の混合溶液について、上記遠心分離器を用いて回転速度3,300rpmで15分間遠心を行い、得られた上清につき、回転速度7,500rpmで50分間遠心を行い、沈殿物としてリン脂質膜が表面に存在する磁性微粒子を得た。リン脂質膜は、リン脂質膜と磁性微粒子の合計量に対して、75重量%の割合で存在していた。

【0021】（5）抗体分子の固定化

部分分解して得られた抗体の（Fab'）₂断片を1mg/mlの濃度とし、0.1M酢酸+0.15MのNaCl（pH5）に対して脱塩した。ジチオスレイトールを濃度3.85mg/mlとなるように添加し、90分間還元処理してFab'断片を得た。このFab'断片は、SH基を分子鎖末端に1個有していた。PBSに対して脱塩した。上記（4）で得られたマレイミド基を含有するリン脂質膜が表面に存在する磁性体粒子1mgに対してFab'10-200μgを試験管に加え、4℃で40時間反応させた。得られた反応液について、上記の遠心分離器を用い、回転速度7,500rpmで50分間遠心して未固定Fab'を除去することにより、Fab'が固定した磁性微粒子を取得した。ここで、部分分解する前の抗体は、ヒト脳腫瘍関連抗原に特異的に結合するG22モノクローナル抗体であり、これを部分分解後、還元処理して得られた断片（フラグメント）Fab'は、SH基と抗原結合部位を有する分子量約50,000の蛋白質である。

【0022】この方法により得られた、反応液中のFab'濃度と固定化抗体量の関係を図1に示す。また、マレイミド基を有するリン脂質（活性型脂質：EMC-DPPE）量と抗体固定化量の関係を図2に示す。図1から、Fab'濃度の増加とともに、固定化Fab'量が増加することが、図2から、マレイミド基を有するリン脂質量の増加とともに、固定化Fab'量が増加することが認められる。このように、本発明の微粒子（1）に、本発明の方法により、生体高分子が効率よく固定化されることが明らかにされている。

【0023】（6）細胞取り込み法による固定化抗体の

活性評価

ヒト脳腫瘍細胞（培養細胞U251-SP株）に、G22抗体のFab'断片を固定化した磁性微粒子100pg/cellを加え、非特異的取り込みを避けるため70rpmで振とうした。比較実験（control）として、細胞に親和性のないマウス由来Fab'断片を固定化した磁性微粒子を用いた。その結果、比較実験に対して、3-9倍の磁性体粒子が細胞内に取り込まれた。さらに、別の比較実験として、抗体が固定化されていない磁性微粒子（ML）を用いた実験を行った。この場合、磁性微粒子（ML）はほとんど細胞内に取り込まれなかった。図3に、以上の結果が経時的に示されている。この結果は、本発明の方法によって、G22抗体のFab'断片を本発明の微粒子（1）に固定化しても、G22抗体のFab'断片の生理活性は十分維持されていることを明らかにするものである。

【0024】

【発明の効果】本発明によれば、（イ）効率的、かつ生理活性をなるべく低下させずに生体高分子を固定化することができる微粒子、（ロ）この微粒子に効率的、かつ生理活性をなるべく低下させずに生体高分子を固定化する方法、および（ハ）生体高分子が効率的に固定化されており、かつ固定化された生体高分子の生理活性の低下の少ない微粒子が提供される。

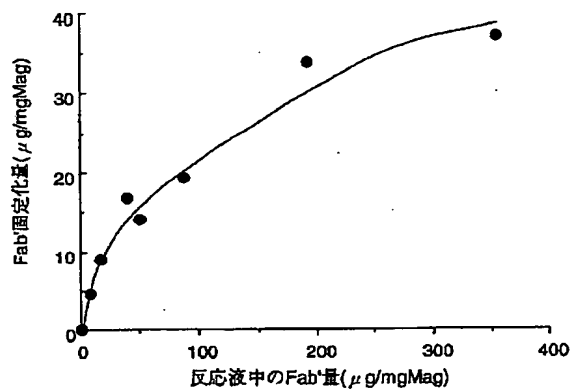
【図面の簡単な説明】

【図1】マレイミド基を含有するリン脂質膜が表面に存在する微粒子に抗体フラグメントFab'を固定化する反応において、反応液中のFab'量と固定化Fab'量の関係を示すグラフである。

【図2】マレイミド基を含有するリン脂質膜が表面に存在する微粒子に抗体フラグメントFab'を固定化する反応において、このリン脂質量と固定化Fab'量の関係を示すグラフである。

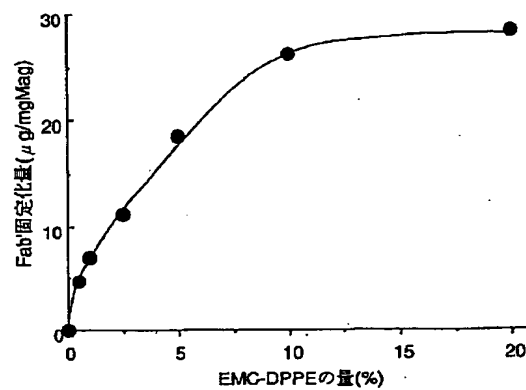
【図3】ヒト脳腫瘍細胞（培養細胞U251-SP株）に、G22抗体のFab'断片を固定化した磁性体粒子の取り込み量と、ヒト脳腫瘍細胞に親和性のないマウス由来Fab'断片を固定化した磁性体粒子の取り込み量（control）および抗体を固定化していない磁性微粒子の取り込み量（ML）とを比較したグラフである。

【図1】



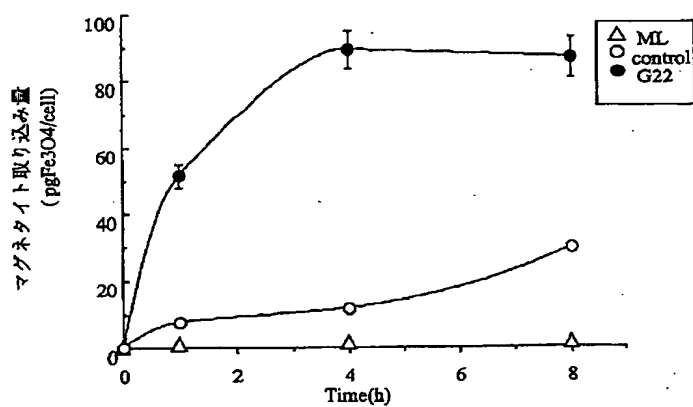
抗体固定化量に対する抗体濃度の影響

【図2】



抗体固定化量に対する活性型脂質の量の影響

【図3】



マグネタイトの取り込み量の経時変化

フロントページの続き

(72)発明者 本多 裕之
愛知県名古屋市緑区鳴海町字大清水69-
239

(72)発明者 北出 有
三重県松阪市日丘町1376-7